



REC'D 29 AUG 2003

WIPO PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 54 072.1
Anmeldetag: 19. November 2002
Anmelder/Inhaber: Alpha-Biocare GmbH, Düsseldorf/DE
Bezeichnung: Vitex agnus-castus als Repellent gegen lästige,
parasitische oder schädliche Arthropoden
IPC: A 01 N 65/00

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 31. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Stech

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Anmelder:

Alpha-Biocare GmbH

Gebäude 26.03

Heinrich-Heine-Universität

Universitätsstr. 1

40225 Düsseldorf

DE

10 Erfinder:

Mehlhorn, Heinz, Prof. Dr., St.-Georgstr. 21, 41468 Neuss, DE

Schmahl, Günter, Priv.-Doz., Dr., Merheimer Str. 478, 50735 Köln, DE

Schmidt, Jürgen, Dr., Norfer Str. 9, 40221 Düsseldorf, DE

Titel:

Vitex agnus-castus als Repellent gegen lästige, parasitische oder schädliche Arthropoden

20 Die vorliegende Erfindung betrifft Bestandteile oder Extrakte aller Art, die aus der Pflanze Vitex agnus-castus (dt. Mönchspfeffer) gewonnen und als Repellent gegen leckende, lymph- und/oder blutsaugende, hautpenetrierende bzw. Vorräte, Materialien oder Pflanzen befallende Arthropoden (Milben, Zecken, Insekten) bei Mensch, Haus-, Heim- und Nutztieren oder im Material- und Vorratsschutz eingesetzt werden

Patentansprüche

1. Repellents gegen Arthropodenbefall bei Menschen, bei Haus-, Heim- und Nutztieren und im Vorratsschutz, dadurch gekennzeichnet, dass sie aus der Pflanze *Vitex agnus-castus* gewonnen werden.
- 5 2. Repellents nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie Pflanzenteile oder Extrakte der Samen, Früchte, Blätter, Stengel, Stamm oder Wurzeln von *Vitex agnus-castus* enthalten.
3. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Zecken oder Milben verwendet werden.
- 10 4. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Fliegen oder Bremsen verwendet werden.
5. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Mücken verwendet werden.
6. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Flöhe verwendet werden.
7. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Kriebelmücken, Gnitzen oder Sandmücken verwendet werden.
8. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Läuse (Kopf-, Kleider- und Filzläuse) verwendet werden.
- 20 9. Repellents nach Ansprüchen 1-2, dadurch gekennzeichnet, dass sie gegen Wanzen (Bett- und Raubwanzen) verwendet werden.
10. Repellents nach Ansprüchen 1-9, dadurch gekennzeichnet, dass sie zum Schutz vor dem Stich lymph- oder blutsaugender Insekten und anderer Arthropoden verwendet werden.
- 25 11. Repellents nach Ansprüchen 1-10, dadurch gekennzeichnet, dass sie zum Schutz vor die Haut penetrierenden Arthropoden verwendet werden.
12. Repellents nach Ansprüchen 1-11, dadurch gekennzeichnet, dass sie zum Schutz vor der Übertragung von Krankheitserregern verwendet werden.
- 30 13. Repellents nach Ansprüchen 1-9, dadurch gekennzeichnet, dass sie zum Schutz von Materialien, z.B. Textilstoffe, Felle, Lebensmitteln und anderen Agarprodukten verwendet werden.
14. Repellents nach Ansprüchen 1-12, dadurch gekennzeichnet, dass sie außerdem die Haut pflegende Zusätze enthalten.
- 35 15. Repellents nach Ansprüchen 1-13, dadurch gekennzeichnet, dass sie Zusätze enthalten, die zur Fellpflege von Tieren geeignet sind.
16. Repellents nach Ansprüchen 1-14, dadurch gekennzeichnet, dass sie Parfümcharakter haben und Duftstoffe zugesetzt werden.

17. Repellents nach Ansprüchen 1-15, dadurch gekennzeichnet, dass ihnen Substanzen zugefügt werden, die die Haltbarkeit des Produkts erhöhen, z.B. Antioxidationsmittel wie Ascorbinsäurepalmitat oder Butylhydroxytoluol.
18. Repellents nach Ansprüchen 1-16, dadurch gekennzeichnet, dass ihnen UV-Lichtabsorbierende Sonnenschutzmittel, z.B. Titandioxid oder Octylmethoxycinnamat zugesetzt werden.
19. Repellents nach Ansprüchen 1-18, dass sie auch andere Repellentien gegen Arthropoden enthalten, z.B. etherische Öle, DEET, Dimethylphthalat, N,N-Diethylbenzamid, 2-Ethyl-hexan-1,3-diol, Isopulegonhydrat, 1-Piperidincarboxylsäure und Hydroxy-ethyl-isobutyl-piperidin-carboxylat.

Beschreibung:

Eine Vielzahl von Arthropoden befällt die Haut des Menschen bzw. das Fell von Tieren, um dort an Körperflüssigkeiten zu lecken, Lymphe und/oder Blut zu saugen bzw. um in die Haut einzudringen und dann dort heranzuwachsen sowie sich eventuell zu vermehren. Zu diesen

5 Arthropoden gehören Milben (z.B. Herbst-, Vogel-, Räude- und Krätzmilben), Zecken (z.B. Arten der Gattungen Ixodes und Rhipicephalus sowie Argasidae), Mücken (z.B. Arten der Gattungen Aedes, Anopheles, Culex und Culiseta sowie Simuliidae und Ceratopogonidae), Fliegen (z.B. Stuben-, Dassel-, Fleisch-, Aas- und Stechfliegen sowie Tsetsefliegen und Bremsen), Flöhe (z.B. Katzen- und Sandflöhe), Wanzen (z.B. Bett- und Raubwanzen) und

10 Läuse (z.B. Kopf-, Kleider- und Filzläuse).

Die Vertreter dieser Gruppen treten häufig in großen Anzahlen in der Natur auf und dringen auch in menschliche Behausungen bzw. in Refugien von Tieren ein. Sie können die betroffenen Tiere durch ihren Anflug stark belästigen (z.B. Mücken bei Menschen, Fliegen bei Pferden, Kriebelmücken bei Rindern) oder gar eine große Anzahl von viralen, bakteriellen bzw. protozoären Krankheitserregern beim Saugakt übertragen. Auf diese Weise können Arthropoden den Tod von Menschen (etwa durch Malaria, Gelbfieber, Schlafkrankheit, Chagas-Krankheit) und Tieren (z.B. Borreliosen, Babesiosen, Theileriosen) und zudem riesige wirtschaftliche Verluste herbeiführen (M. Rommel et al. 2000, Veterinärmedizinische Parasitologie, Parey, Berlin; H. Mehlhorn (Hrsg.) 2001, Encyclopedic Reference of

20 Parasitology, Vol. 1 und 2, Springer-Verlag, Heidelberg, New York).

Daher ist die Suche nach gut wirksamen, lang anhaltenden und gesundheitlich ungefährlichen, aber auch gut riechenden Abwehrstoffen so alt wie die Menschheit (H. Schilcher 1984, Aetherische Öle: Wirkungen und Nebenwirkungen. Dt. Apothekerzeitschrift 124: 1433–1442). Die den Anflug von Lästlingen bzw. die Infestation von ektoparasitischen

25 Arthropoden abwehrenden bzw. abhaltenden Substanzen werden Repellentien genannt. (O. Hansen und M. Londershausen 2000: Ectoparasitocides: In: H. Mehlhorn (Hrsg.) Encyclopedic Reference of Parasitology, Springer-Verlag, Heidelberg).

30 In der Volks- bzw. Naturmedizin werden die Extrakte von Pflanzen einzeln oder in Kombinationen als Repellentien empfohlen, wobei insbesondere etherische Öle verwendet werden, z.B. Pfefferminzöl, Thymianöl, Rosmarinöl, Geranienöl, Citronellaöl, Nelkenöl, Zedernholzöl, Zitronengrasöl, Eugenol und Katzenminzeöl (D.R. Barnard 1999. Repellency of essential oils to mosquitoes, Diptera: Culicidae. J. Med. Entomol 36: 625-629; G. Nentwig 2003, Repellents, Parasitology Research, im Druck; H. Schilcher 1984, Aetherische Öle: Wirkungen und Nebenwirkungen. Dt. Apothekerzeitschrift 124: 1433–1442; A. Tawatsin et al. 2001, Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors, J Vector Ecol).

35 Das Patent DE 3901341A offenbart ein Gemisch aus Citronellol und Eugenol als Repellent gegen Kleidermotten und Kabinettkäfer. Andere aus Pflanzen gewonnene Inhaltsstoffe, z.B. das Pyrethrum aus Chrysanthemen, werden als Insektizide genutzt. Die heute von der

Industrie vermarkteten Produkte zur Abwehr von Arthropoden enthalten jedoch überwiegend Substanzen, die auf synthetischem Weg hergestellt werden (K.H. Buchel 1970, Chemistry of plant protection agents and pesticides, In: R. Wegler, Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Vol. 1, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York).

5 Marktbeherrschend ist dabei weltweit heute noch DEET (N,N-Diethyl-m-toluamid), das in vielen Produkten enthalten ist und auch im alten Autan® vorhanden war. Andere bekannte Repellentien sind Dimethylphthalat, 2-Ethyl-hexan-1,3-diol, Isopulegonhydrat, 1-Piperidinecarboxylsäure und Hydroxy-ethyl-isobutyl-piperidin-carboxylat, der Wirkstoff im derzeit vermarkteten Autan®. (M.S. Fradin 1998. Mosquitoes and mosquito repellents: a clinician's guide. Ann. Int. Med. 128:931-940)

10 Nachteil aller bisher beschriebenen, aus Pflanzen gewonnen Repellentien ist, dass sie jeweils nur bei einer oder höchstens wenigen Arten/Gruppen von Schadarthropoden wirken. Ein wesentlicher Nachteil besteht darin, dass ihre Wirkung meist auf sehr kurze Zeit beschränkt bleibt (American Pharmaceutical Assn., Washinton D.C. 1993, Handbook of nonprescription drugs, 10. Aufl.). Nachteilig ist auch, dass etherische Öle bekanntermaßen oft einen als unangenehm empfundenen Geruch verbreiten. Einige Haustiere, insbesondere Katzen vertragen etherische Öle, z.B. Teebaumöl oder Thymianöl nicht (D. Villar et al. 1994, Toxicity of melaleuca oil and related essential oils applied topically on dogs and cats. Vet. Hum. Toxicol. 36:139-142). Den Tieren fehlen bestimmte Enzyme, so dass die für sie giftigen Substanzen nicht verstoffwechselt und ausgeschieden werden können. Als Repellentien verwendete etherische Öle haben ein recht hohes allergisierendes Potential, so dass viele Menschen diese Mittel nicht vertragen (A. Woolf 1999, Essential oil poisoning. J. Toxicol. Clin. Toxicol. 37:721-727; S. Baum 2002, Aromatherapie: zwischen Esoterik und 20 Arzneimittelrecht, Pharm. Ztg. 147:1208-1212). Etherische Öle dringen relativ leicht durch die Haut und können sogar andere Substanzen mit in die Haut hinein schleppen, wodurch unerwünschterweise Chemikalien in den Körper gelangen (A.C. Williams, B.W. Barry 1992 Skin absorption enhancers, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Sys. 9:17-24). DEET hat den Nachteil, dass es nicht gut riecht, gesundheitsschädlich ist, Plastik anlässt und zudem eine sehr geringe Wirkung gegen Zecken und Milben hat (H. Qiu et al. 1998, Pharmacokinetics, 25 formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET): a review. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. 14:12-27; P.J. Robbins, M.G. Cherniak 1986, Review of biodistribution and toxicology of the Insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) J. Toxicol. Environ. Hlth. 18:503-525). Der von der WHO als Mittel der Wahl empfohlene Wirkstoff Bayrepel (Hydroxy-ethyl-isobutyl-piperidin-carboxylat) hat zwar deutlich bessere kosmetische Eigenschaften und zerstört auch Plastikmaterialien nicht mehr, zeigt aber 30 immer noch keine länger als etwa 2 Stunden andauernde Wirkung auf Zecken, was aber selbst für "normale" Wanderungen nicht ausreicht, insbesondere nicht in Gebieten, wo es einen hohen Infektionsdruck mit durch Ixodes ricinus übertragene Erreger der Borreliose,

Ehrlichiose, Babesiose und/oder der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) gibt (<http://www.aufan.com>).

Zudem weisen weder die bisher bekannten Pflanzenextrakte noch DEET, Bayrepel, Dimethylphthalat oder andere synthetische Repellentien eine befriedigende Wirkung gegen den Anflug von Fliegen auf. Trotz Applikation dieser Substanzen können insbesondere Schmeiß- und Stallfliegen sowie Bremsen bei Mensch und Tier zur Qual werden. Auch auf andere und vor allem hautpenetrierende, lymph- oder blutsaugende Arthropoden ist keine ausreichende Wirkung der bekannten Mittel gegeben.

Aus der vorhandenen Literatur und nach Bewertung der auf dem Markt erhältlichen Produkte kann festgestellt werden, dass zur Zeit keine Substanz als Repellent bei Mensch und Tieren Verwendung findet, die für mindestens 6 bis 8 Stunden gleichermaßen gegen den Befall durch Zecken, Milben, Mücken, Fliegen, Bremsen, Flöhen, Wanzen, Läuse schützt, dabei noch angenehm oder erträglich riecht, keine Gesundheitsgefahren für Mensch, Hund, Katze, Pferd und andere Haustiere heraufbeschwört und dazu ein Naturprodukt darstellt (A. Turberg 2001 Ectoparasitocides and repellents. In: H. Mehlhorn [Hrsg.] Encyclopedic Reference of Parasitology. Vol. 1 und 2, Springer, Heidelberg, New York.; <http://www.holzer.li/repellentien.htm>).

Obwohl einzelne Produkte oder Gemische von Pflanzenextrakten durchaus ansehnliche Wirkungen auf einzelne Insektenarten haben, gibt es bisher noch kein Produkt, das mindestens 8 Stunden sowohl bei Zecken, Milben und der Vielzahl verschiedener Insekten und insbesondere bei Fliegen wirkt. Dies stellt z.B. schon bei kurzen Wanderungen in freier Natur ein Problem dar, weil der Wanderer ja nicht vorhersehen kann, ob er und sein ihn begleitender Hund von Fliegen, Mücken, Zecken, Bremsen einzeln oder von allen gleichzeitig belästigt werden. Insbesondere gegen Zecken, Milben und Fliegen ist zudem noch kein Mittel auf dem Markt, das einen befriedigenden Schutz bieten würde.

Es besteht daher ein starker Bedarf, ein breit wirksames, gleichzeitig auch gegen die bisher nicht sicher erfaßten Zecken, Milben und Fliegen aktives Repellent bereitzustellen, das Menschen und Tiere gleichermaßen vor dem Befall mit Arthropoden schützt.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein einfach anzuwendendes, breit wirkendes (sowohl gegen Zecken und Milben als auch Insekten) und zudem langanhaltend, d.h. für mindestens 8 Stunden, effektives Repellent gegen den Befall mit den wichtigsten Gruppen der Lästlinge und Schadarthropoden bereitzustellen. Diese Aufgabe wird überraschenderweise durch den kennzeichnenden Teil des Anspruchs 1 gelöst.

Es wurde nun überraschend gefunden, dass Extrakte von *Vitex agnus-castus* eine Schutzwirkung sowohl vor dem Befall mit Zecken als auch einem extrem breiten Spektrum von Insekten besitzt. Dies ist bei den bekannten natürlichen und synthetischen Wirkstoffen nicht gegeben. Von Vorteil ist auch, dass Extrakte von *Vitex agnus-castus* keine giftigen

Inhaltsstoffe besitzt, die die Gesundheit von Mensch und Tier beeinträchtigen könnten. Vitex agnus-castus ist für andere Heilanwendungen im/am Menschen wohl bekannt, z.B. zur Linderung von Menstruationsbeschwerden und ist als Bestandteil von freiverkäuflichen Arzneimitteln zugelassen (J. Schellenberg 2001, Treatment for the premenstrual syndrome with agnus-castus fruit extract: prospective, randomized, placebo controlled study, BMJ 322:134-137). Die Pflanzeninhaltsstoffe von V. agnus-castus sind als humane Arzneimittel bereits intensiv auf toxische und andere Nebenwirkungen untersucht worden und dabei wurden keinerlei Nebenwirkungen festgestellt (J. Schellenberg 2001, s.o.; W. Hager 1990 Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, 5. Aufl.). Allergien, die bekanntlich durch einige der in Repellentien verwendeten etherischen Öle bei vielen Menschen ausgelöst werden, sind für Vitex agnus-castus bisher nicht bekannt geworden.

Im Unterschied zu den bekannten etherischen Ölen, die als Repellentien verwendet werden, haben die Extrakte von Vitex agnus-castus für uns Menschen keinen intensiven oder sogar penetranten Geruch. Deshalb können mit Vitex agnus-castus wesentlich leichter geruchsneutrale Produkte und durch Zusatz von Parfümstoffen auch angenehm riechende Präparate hergestellt werden.

Somit können Extrakte von Vitex agnus-castus unbedenklich für die Gesundheit des Nutzers angewendet werden und der Wirkstoff schützt sehr sicher sowohl vor Belästigungen durch Lästlinge (Fliegen) als auch vor einer Übertragung von Krankheitserregern (z.B. Borreliose durch Zecken; Malaria und Gelbfieber durch Mücken). Diese Schutzwirkung wird zudem gleichzeitig dem Menschen als auch seinen Haus-, Nutz- und Heimtieren geboten.

Von Vorteil ist auch, dass die Pflanze Vitex agnus-castus im gesamten Mittelmeerraum bis in Westasien weitverbreitet vorkommt, in Küstennähe und an Flussläufen dichte Bestände bildet und in subtropischen Ländern auch kultiviert wird. Daher ist für die Herstellung und Vermarktung des Repellents das Pflanzenrohmaterial in großer Menge leicht verfügbar.

Ein wesentlicher Vorteil für die erfolgreiche Vermarktung des erfindungsgemäßen Repellents ist auch die Tatsache, dass die Mehrzahl der Verbraucher in der heutigen Zeit Naturprodukte (in der Art des erfindungsgemäßen Repellents) bevorzugt gegenüber industriell synthetisierten Chemikalien, denen viele Menschen sehr kritisch gegenüberstehen.

Herstellung erfindungsgemäßer Repellents:

Zur Herstellung von erfindungsgemäßen Repellents können vorzugsweise die Samen und Blätter, aber auch Zweige und Wurzeln der Pflanze Vitex agnus-castus verwendet werden. Eine einfache Herstellung besteht in der Zerkleinerung der genannten Ausgangsmaterialien. Bevorzugt ist jedoch die Extraktion der wirksamen Inhaltsstoffe von Vitex agnus-castus mit wässrigen oder organischen Lösungsmitteln, z.B. Ethanol oder Isopropanol, mit überkritischem Kohlendioxid oder durch Dampfdestillation. Die gewonnenen Extrakte werden dann durch Vermischen mit verschiedenen Hilfsmitteln wie Wasser, Ethanol oder anderen ein- oder mehrwertigen Alkoholen, Glycerin, Polyethylenglycol, Tensiden,

Lösungsvermittlern, Emulgatoren, Duftstoffen, Verdickungsmitteln, Stabilisatoren, Antioxidantien, Fixateuren, Konservierungsmitteln und verschiedensten anderen Substanzen zu Fertigprodukten formuliert. Bevorzugte Formulierungen von Repellents mit *Vitex agnus-castus* enthalten den öligen Extrakt der Pflanze in einer Menge von 0,05-100Vol-%, bevorzugt 0,5-33Vol-% und ganz bevorzugt in einer Menge von 1-7Vol-%.

Beschreibung von Anwendungsbeispielen:

Samen von *Vitex agnus-castus* werden zerkleinert und hiervon 15 g mit 75 ml Acetonitril über Nacht extrahiert. Der Extrakt wird durch einen Faltenfilter abfiltriert und das Lösungsmittel in einer Petrischale aus Glas bei Raumtemperatur in einem Abzug vollständig abgedampft. Je 1 ml des öligen Rückstands wird aufgenommen mit 4 ml von einer Lösung aus 50% Wasser, 20% Genapol, 20% Ethanol und 10% Polyethylenglycol 300. Eine in dieser Weise hergestellte Gebrauchslösung des Repellents wurde für die folgenden Tests verwendet.

1. Zeckenarten (*Rhipicephalus sanguineus* und *Ixodes ricinus*)

A. In Versuchen wurden Mäuse (BALB/c) mit dem erfindungsgemäßen Repellent (s.o.) besprüht und in kleine, oben offene Käfige verbracht. Es wurden jeweils 10 hungrige Zeckenweibchen auf das Fell der Tiere gesetzt. Es wurde festgestellt, dass die Zecken sofort flüchten, sich in die hintersten Ecken des Käfigs verkriechen und von dort für mehr als 8 Stunden nicht mehr hervorkommen. Bei den Kontrollen, wo die Zecken lediglich auf den Boden neben einer unbehandelten Maus gesetzt wurden, waren bereits nach 4 Stunden 8 von 10 der Zecken an der jeweiligen Maus angesogen.

B. Je zwei Hunden und Katzen, die mit dem *V. agnus-castus*-Extrakts leicht eingesprüht worden waren, wurden je 10 Zecken (*Ixodes ricinus*) im Stundenabstand aufs Fell gesetzt und beobachtet. Es zeigte sich eine sofortige Fluchtreaktion der Zecken wie bei den Versuchen mit den Mäusen (s.o.).

2. Fliegen (*Sarcophaga carnaria*, Graue Schmeißfliege)

Hier wurden mit Latexhandschuhen bedeckte Hände mit dem *V. agnus-castus*-Repellent besprüht und in einen Käfig mit etwa 500 Fliegen für 3 Minuten gehalten. Dabei wurde die Anzahl der "Anflüge", die jeweiligen "Ansitzraten" und die Zeit notiert, die im Falle des Setzen auf der besprühten Fläche verweilt wurde.

Es zeigte sich, dass in den ersten 3 Stunden zwar viele Fliegen anfliegen, sich aber keine setzten. In den nächsten 5 Stunden setzten sich von je 30 angeflogenen Fliegen maximal 4-7, blieben aber höchstens 1-2 Sekunden sitzen, während sich bei den Kontrollen die Fliegen von Beginn an nach dem Anflug auf den unbehandelten Handschuh setzten und auch länger als 10-15 Sekunden dort blieben.

3. Stallfliegen (*Stomoxys calcitrans*)

Ein mit dem Repellent eingesprühte Hand wurde in halbstündigem Abstand in einen Käfig mit 50 hungrigen Fliegen gehalten. Eine unbehandelte Hand diente als Kontrolle. Die Anflüge in jeweils 5 Minuten wurden gezählt. Es zeigte sich, dass die Fliegen das Anfliegen zu einer besprühten Hand für 4 Stunden vollständig unterlassen und danach lediglich ein viertel bis ein zehntel der Fliegen anflogen und sich setzten, während es bei den Kontrollen sofort zum Stechen kam.

4. Katzenflöhe (*Ctenocephalides felis*)

Mit Mönchspfeffer-Extrakt eingesprühte BALB/c-Mäuse wurden einzeln in kleine, mit Gaze bespannte Insektenkäfige verbracht und 50 hungrigen Flöhen ausgesetzt. In 30-minütigem Abstand wurde beobachtet, wo sich die vitalen Flöhe befanden. Während im Falle der unbehandelten Kontrollen die meisten Flöhe sofort den Nager befielen und zu saugen begannen, sprangen die Flöhe bei behandelten Mäusen sofort vom Fell weg, sobald sie damit in Kontakt kamen. So waren z.B. nach 6 Stunden von 50 Flöhen 45 auf dem Boden zu finden, einer befand sich frei im Fell und nur einer unternahm offenbar einen Saugversuch.

5. Mücken (Weibchen von *Aedes aegypti*, *Anopheles maculipennis* und *Culex pipiens*)

In je einen Versuchskäfig wurden etwa 500 hungrige Mückenweibchen jeder Art verbracht.

Dann wurde eine 6 x 6 cm große freie Hautstelle eines menschlichen Arms mit dem V. agnus-castus-Extrakt besprüht. Der Rest des Arms war mit undurchlässigem Kunststoff bedeckt. Im Stundenabstand wurde der behandelte Arm für 3 Minuten in den jeweiligen Käfig gehalten und notiert, ob sich Mücken auf die besprühte Stelle setzten. Für 8 Stunden setzte sich keine Mücke auf die besprühte Stelle, während eine entsprechende Testfläche auf einem unbehandelten Arm sofort von den Mücken angenommen wurde.

6. Kleiderläuse (Adulte und Nymphen der *Laus Pediculus humanus corporis*)

Auf einem Stück hellem Stoff wurde ein Kreis mit dem Wirkstoff abgegrenzt. Ins Innere des Kreises wurden 50 Läuse verbracht und dann beobachtet, ob sie nach Beleuchtung die wirkstoff-betäufelte Randzone überschritten. Kamen Läuse mit dem besprühten Rand in Kontakt, wichen sie sofort zurück. Wurden sie auf die besprühte Fläche gesetzt, verließen sie diese ganz schnell.

7. Kleidermotten (Larven und Adulte)

Wurden larvale und adulte Kleidermotten auf mit V. agnus-castus besprühte Flächen (Wollstoff) gesetzt, so verließen sie diese fluchtartig binnen 6 Stunden nach Applikation des Repellents. Auf nicht behandelten Stoffen blieben die Tiere sitzen.

Rezepturbelspiele:

Da ein Repellent gleichzeitig noch hautpflegende Eigenschaften haben und zudem noch einen angenehmen Duft verbreiten soll, dessen Note von individuellen Vorzügen abhängig ist, ergeben sich viele Rezepturmöglichkeiten. Die ausgeführten Beispiele dürfen daher in keiner Weise als einschränkend für die Verwendbarkeit der erfindungsgemäßen Repellentien aufgefaßt werden.

Beispiele sind:

1. Repellent als Spray, Duft mit Grün-Note, d.h. kühl und leicht nach Wiese und Waldboden riechend:

10 Gramm getrocknete und zerkleinerte Samen von *V. agnus-castus* werden mit 100 ml 70%-igem, denaturiertem Ethanol für 24 Stunden extrahiert. Der abfiltrierte ethanolische Extrakt wird ohne vorheriges Eindampfen mit den nachfolgend genannten Hilfsstoffen verrührt:

33 ml ethanolischer Extrakt von *V. agnus-castus*

20 ml Glycerin

Parfümstoffe (Aldehyde und entsprechende Alkohole, Hexanole sowie deren Esther)
Wasser und Zitronensäure ad 100 ml und pH 5,5

2. Repellent als Spray mit erfrischender Citrus-Note:

33 ml ethanolischer Extrakt von *V. agnus-castus*

4 ml Genapol® X-080 (Höchst AG)

0,3 ml Zitronengrasöl

ad 100 ml Wasser

3. Repellent als Lotion

Zur Gewinnung des Repellents durch Dampfdestillation werden 100 g Blätter von *Vitex agnus-castus* zerkleinert und mit 300 ml Wasser und ein paar Glaskugeln in einer Destillationsflasche angesetzt. Das Gefäß wird in einem Paraffinbad mit etwa 120°C bis zum vollständigen Verdampfen des Wassers erhitzt und der Dampf unter Abkühlung aufgefangen. Die ölige Phase des Destillats wird von der wässrigen Phase abgeschieden.

Nacheinander werden die folgenden, zuvor auf 70°C erwärmten Stoffe unter Rühren zugegeben:

2 ml des öligen *Vitex agnus-castus*-Destillats

7 ml Petrolatum

5 ml Glycerin

5 ml Isopropylpalmitat

3 ml Cetylalcohol

1 ml Distearyl dimethylammoniumchlorid

1 ml Dimethicon

0,6 ml Phenoxyethanol

Wasser ad 100 ml

4. Repellent gegen Kleidermotten in Kleiderschränken

10 g Samen von *Vitex agnus-castus* werden eingefüllt in ein Sacht aus Papier mit einer kleinen Aufhängeschnur. Zur Sicherung der Qualität während längerer Lagerung vor der Verwendung wird das Sacht in eine Umverpackung aus Kunststoff oder Aluminiumfolie mit der für den Kunden erforderlichen Beschriftung gegeben.